

Papéis Avulsos de Zoologia

DESENVOLVIMENTO OVARIANO DE OPERÁRIAS ADULTAS DE *SCAPTOTRIGONA POSTICA* LATR. (HYM.: APIDAE). III: ASPECTOS HISTOLÓGICOS E HISTOQUÍMICOS¹

MARINA A. STAURENGO DA CUNHA²

ABSTRACT

Histological and histochemical components of the ovaries of Scaptotrigona postica workers are described related to adult life.

The ovaries classified in six stages of development, were submitted to several techniques of staining, and furnished some informations about the behaviour of germarium and vitellarium cells.

A comparative study of oogenesis stages in adult workers of this stingless bee is also included.

INTRODUÇÃO

O sistema de castas nos Hymenoptera está limitado ao sexo feminino. Nas colônias de abelhas altamente sociais quase sempre se encontra uma única rainha e um grande número de operárias com os trabalhos da colônia claramente dividido entre elas.

A diferenciação entre as castas nos Meliponinae e Apinae são semelhantes, enquanto a rainha copula e põe enorme quantidade de ovos, os ovários das operárias permanecem delgados, ou produzem ovos partenogenéticos que originarão machos (ovos funcionais), e ovos que servirão de alimento para a rainha (ovos tróficos ou nutritivos).

As diferenças estruturais entre as castas foram estudadas detalhadamente em *Apis*. Estas são de interesse para mostrar as direções nas quais a evolução tem ocorrido nas duas castas, apesar da admitida falta de diferença genética entre elas (Michener, 1974).

1. Parte de Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, e realizada com auxílio do Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

2. Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, UNESP. 13500 Rio Claro, SP.

Assim como em *Apis*, a determinação de casta entre os Trigonini parece estar controlada pela qualidade e quantidade de alimento larval (Darchen & col., 1970; Camargo, 1970).

Darchen (1973) acredita que as condições tróficas podem explicar a determinação de castas tanto em *Melipona* como em *Trigona* mas desde que em seus experimentos obteve rainhas e operárias em taxas diferentes das esperadas, ele considera a possibilidade de um componente genético nesta determinação.

Isto torna compreensível porque muitos caracteres da rainha são encontrados nas operárias. Por isso, a postura de ovos pelas operárias é uma das características mais importantes na regulação social destes insetos.

Portanto, o funcionamento dos ovários das operárias poedeiras é de especial interesse na consideração da sociabilidade por causa dos graus das diferenças entre rainhas e operárias (Michener, 1974).

Vários autores, como Snodgrass (1956) Sakagami & Akahira (1958) analisaram detalhadamente os ovários, o número de ovários bem como a oogênese da rainha e operária de *Apis mellifera*.

Engels (1973, 1974) descreveu a oogênese em rainhas de *Apis mellifera*, analisando seus estágios vitelogênicos, bem como a diferença na taxa de vitelogenina entre rainhas, operárias e ginandromorfos de *Apis florea* e *Apis mellifera*.

Dentre os trabalhos sobre desenvolvimento de ovários de operárias das abelhas eusociais superiores, que não *Apis*, destacam-se os de Sakagami e cols. (1963), Sakagami & Zucchi (1963, 1966, 1967), Akahira & cols. (1970), Beig (1972), Terada (1974) e Bego (1974).

Apesar de vários trabalhos terem sido publicados quanto ao comportamento dos ovários nas operárias e sua dependência na regulação social destes insetos, nenhum se deteve mais profundamente no estudo da morfologia dos ovários em condições normais.

Portanto, podemos resumir o objetivo deste trabalho como sendo o de verificar quais os componentes morfológicos e histoquímicos presentes nos ovários e suas variações ao longo do desenvolvimento da operária adulta, com o propósito de servir de base para um melhor entendimento das diferenças entre rainhas e operárias.

MATERIAL E MÉTODOS

Ovários de abelhas com 1, 10, 15, 20 e 30 dias de idade foram obtidos por dissecação, e em seguida separados em 6 estágios de desenvolvimento (Staurengo da Cunha, 1976).

Para os procedimentos histológicos e histoquímicos os ovários foram fixados numa variedade de fixadores dependendo da técnica a ser utilizada, desidratados em álcool, incluídos em parafina e seccionados com uma espessura de 7 micrômetros.

Secções coradas em hematoxilina Delafield-eosina foram examinadas histologicamente.

Histoquimicamente, os ovários foram tratados com as seguintes técnicas: material fixado em Kahle foi usado para demonstração de DNA de acordo com a técnica de Feulgen & Rossenbeck (*in* Pearse, 1960). A técnica do ácido periódico-Schiff (PAS) segundo McMannus (Pearse, 1960) foi usada em secções fixadas em Bouin para demonstrar a existência de carboidratos. Glicogênio foi identificado pela digestão com ptialina (Lison, 1953). Lipídeos foram demonstrados pela

técnica de Sudan Black B (Pearse, 1960) em materiais fixados em formol-cálcio, em secções em gelatina e secções em parafina. A mesma técnica do Sudan Black B também foi usada para montagens dos ovários corados e incluídos em parafina, segundo Gerber (1970). A técnica de ninhydrina-Schiff segundo Yazuma & Ichikawa (Pearse, 1960) foi usada em material a fim de demonstrar a existência de proteínas.

RESULTADOS

Os ovários das operárias de *Scaptotrigona postica* são do tipo meroístico politrófico. Eles são compostos por quatro ovariolos estreitamente ligados entre si, tornando-se difícil uma distinção externa, principalmente nos estágios iniciais do desenvolvimento.

Em secções coradas pela HE e examinadas ao microscópio óptico, cada ovariolo apresenta-se como um filamento, onde é possível distinguir constrictões delimitando zonas dependendo do estágio de desenvolvimento. Tais zonas são representadas pelo filamento terminal, germário, vitelário e pedicelo. O vitelário compõe-se de duas câmaras, a nutritiva e a oocítica.

Os ovários estudados, segundo o grau de desenvolvimento, puderam ser distribuídos em estágios de 0 a V.

OVÁRIO NO ESTÁGIO 0 (fig. 1A)

Ao microscópio estereoscópico, este tipo de ovário apresenta-se não desenvolvido, sem sinal de constrição nos ovariolos bem como ovariolos estreitamente ligados entre si, impossibilitando a contagem do número deles.

Em secções coradas pela HE, cada ovariolo apresenta-se como um filamento longo e fino onde é possível distinguir as seguintes zonas; filamento terminal, germário, câmara-nutritiva e pedicelo.

O filamento terminal apresenta-se como uma massa eosinófila com núcleos basófilos bem pequenos e compactados, ocupando um quarto do comprimento total dos ovariolos.

O germário é uma massa citoplasmática eosinófila sem separação nítida entre as células, com um grande número de núcleos esféricos contendo uma granulação intensamente basófila. Esta região ocupa dois quartos do comprimento total dos ovariolos.

A câmara-nutritiva é a única porção visível do vitelário. Contém as células nutritivas ou trofócitos. Estas células são grandes e de forma poliédrica, apresentando núcleos esféricos e citoplasma com granulação basófila. Separando estas células existem pequenos espaços intercelulares. As células nutritivas mais inferiores já não são mais poliédricas e sim achatadas. Esta porção ocupa o quarto restante dos ovariolos.

O pedicelo é uma estrutura em forma de taça formado por células colunares altas com núcleos redondos basófilos.

Não distinguimos células mesodermais separando estas zonas.

OVÁRIO NO ESTÁGIO 1 (fig. 1B)

Ao microscópio estereoscópico, este tipo de ovário apresenta um início de constrição dos ovariolos e oócitos com pouco vitelo. Sendo

assim, já em cortes histológicos devemos encontrar uma câmara-oocítica no início de sua formação.

O filamento terminal tem o mesmo aspecto anterior.

O germário também apresenta o mesmo aspecto anterior, somente que agora ocupa um comprimento menor. Células mesodérmicas separam o germário da região seguinte.

A câmara-nutritiva também como no estágio anterior apresenta grandes células poliédricas com um núcleo redondo, estando separadas pelos espaços intercelulares.

A câmara-oocítica é bem reduzida mostrando um epitélio folicular com células ainda não bem delimitadas. O citoplasma do oócito apresenta uma granulação fina.

O pedicelo exhibe o mesmo aspecto do estágio anterior.

OVÁRIO NO ESTÁGIO II (fig. 1C)

Sob microscópio estereoscópico este ovário apresenta constrições visíveis nos ovariolos, e oócitos com maior quantidade de vitelo. Em secções histológicas é um longo filamento com zonas bem características.

O filamento terminal tem o mesmo aspecto anterior.

O germário sendo agora a região de maior comprimento, contém três tipos de células; células germinativas primordiais, células nutritivas, células pré-foliculares. Células germinativas primordiais e células nutritivas são facilmente distinguíveis uma das outras, principalmente quando coradas com Feulgen e Sudan Black B. As células nutritivas são maiores que as células germinativas primordiais, sendo que elas vão se tornando maiores ainda à medida que se encaminham em direção à parte mais baixa do ovariolo. Quando coradas pela HE, as células germinativas primordiais se destacam mais que as células nutritivas. Apresentam núcleos redondos intensamente basófilos. Também se tornam visíveis as células pré-foliculares que se localizam mais perifericamente e possuem o aspecto das células foliculares que envolvem o oócito. Separando o germário do vitelário que é a região seguinte há um septo de células mesodérmicas.

A câmara-nutritiva é formada por grandes células redondas que se tornam maiores à medida que se aproxima da câmara-oocítica. É a maior região em largura do ovariolo. Nos cortes, estas células apresentam núcleos esféricos com granulação basófila e citoplasma que se cora pela eosina com granulação semelhante ao núcleo. As células que estão em contacto com a câmara-oocítica apresentam granulação mais intensa. O reagente de Feulgen revela também a presença de um ou dois núcleos nestas células. Os núcleos das células nutritivas apresentam grãos que se coram pela ninhydrina-Schiff. Todo citoplasma é Sudan Black positivo, e os núcleos grandes e esféricos apresentam uma granulação Sudan Black B positiva uniformemente espalhada pelo interior. Esta câmara comunica-se com a câmara seguinte através de um canal central chamado canal alimentar.

A câmara-oocítica contém um simples oócito que ocupa toda a secção desta câmara também chamada de câmara-do-folículo. O oócito contém uma vesícula germinál deslocada para um dos lados do folículo. Dentro da vesícula encontramos grãos densamente compactados e que reagiram positivamente a todos os testes histoquími-

cos empregados. O citoplasma apresenta uma granulação muito fina e homogeneamente distribuída. Quando corada pela HE apresenta-se bem basófila e justamente concentrada na região do canal alimentar em direção à vesícula germinal. O citoplasma do oócito está isolado das células foliculares por uma membrana acelular e todo oócito está circundado pelas células foliculares. Em todas elas se apresentaram com aspecto colunar. Os núcleos revelaram a existência do chamado "corpo Feulgen positivo" (FPB) — um corpo arredondado fortemente Feulgen positivo separado da cromatina restante.

O pedicelo é uma estrutura tubular formada por células semelhantes às células foliculares tanto no que se refere à forma como às suas respostas aos testes histoquímicos.

Cada ovário apresenta-se envolvido por uma membrana acelular, a túnica própria, e todo conjunto de ovários está envolvido por uma membrana formada por uma única camada de células com núcleos achatados chamada membrana peritoneal.

Abelhas com 1 dia de idade já apresentam ovários com esta estrutura.

OVÁRIO NO ESTÁGIO III (fig. 1D, 2A, 2B)

Sob microscópio estereoscópico este ovário apresenta-se bem desenvolvido e dividido em câmaras distintas, tornando-se o filamento terminal indistinto.

O germário deste estágio, aparece bem menor que o vitelário. Encontramos no germário células germinativas primordiais e células nutritivas coradas pela HE, mas não é fácil distinguí-las. Pelo teste PAS estas células mostram uma reação fracamente positiva.

A câmara-nutritiva no início deste estágio é maior que a câmara-oocítica, mas à medida que este estágio avança, ambas adquirem o mesmo tamanho (fig. 2A, B). De início as células nutritivas são poliédricas com grandes núcleos elípticos cheios de granulação. Elas vão se tornando maiores, redondas e com núcleos multidadados e bem granulares. Essa granulação é PAS positiva. Subsequentemente à sua deposição inicial, os grânulos de vitelo PAS positivos migram em direção ao oócito atravessando o canal alimentar. Simultaneamente à migração destas partículas no polo posterior do oócito, glicogênio é visto na forma de grãos densamente compactados por todo citoplasma das células nutritivas.

A câmara-oocítica contém um oócito com grande quantidade de grânulos de vitelo. De início, esta granulação é fina e homogeneamente distribuída pelo citoplasma. À medida que caminhamos para o fim deste estágio o citoplasma enche-se de grandes esferas eosinófilas (fig. 2B). Na região do canal alimentar a granulação é fina semelhante à do citoplasma das células nutritivas. A vesícula germinal é igual à do estágio anterior, somente que agora torna-se difícil distinguí-la devido à grande quantidade de esferas de vitelo.

O oócito durante este período de crescimento revela partículas PAS positivas, precursoras dos glóbulos de proteína do vitelo no citoplasma adjacente ao epitélio folicular, na zona posterior do oócito e na zona anterior em direção ao canal.

O glicogênio foi localizado em pequena quantidade principalmente na periferia do oócito, espalhado entre as grandes esferas do vitelo.

Para se testar se a reação PAS positiva nos glóbulos de vitelo era devida ao glicogênio, secções foram tratadas com amilase salivar a 37° C por 3 horas. Não houve nenhuma alteração da intensidade da coloração, indicando que a reação não era devida ao glicogênio. Para se testar se o complexo carboidrato-proteína era responsável pela reação PAS positiva foi usado o método da ninhydrina-Schiff. As esferas de vitelo deram intensa coloração indicando que elas contêm grande quantidade de proteínas.

As células foliculares que recobrem o oócito, no início deste estágio são altas com núcleos elípticos; em seguida passam a cúbicas com núcleos esféricos (fig. 2B).

O pedicelo é formado por células com núcleos redondos e pequenos.

Este período do oócito é marcado por uma síntese ativa e deposição de vitelo.

OVÁRIO NO ESTÁGIO IV (fig. 2C, D)

Este estágio se caracteriza por apresentar ovos perfeitamente formados. Como já foi afirmado pode apresentar dois tipos de ovos: funcional e alimentar ou trófico. Trataremos de ambos de uma maneira geral desde que não encontramos diferenças significativas entre eles, quanto aos componentes histoquímicos.

Neste caso, a câmara oocítica é substituída por um oócito maduro e o germário é praticamente inexistente.

A câmara-nutritiva, muito reduzida ou ausente. Quando presente pode ser encontrada com poucas células reduzidas, formando uma espécie de cone apoiado no ápice do oócito (fig. 2C). Geralmente apresentam um aspecto de degeneração e são intensamente basófilas.

O oócito atinge seu tamanho máximo ocupando todo o ovaríolo. Os ovaríolos que não se desenvolveram ou que tiveram seu desenvolvimento retardado ficam aderidos à parte anterior deste.

Histologicamente, é possível distinguir as seguintes regiões no ovo, de fora para dentro:

a) uma membrana denominada cório depositada por uma camada de células poliédricas e com um núcleo redondo basófilo com granulação grossa, as células foliculares que se apresentam separadas por um espaço intercelular (fig. 2D), reagiram positivamente a todos os testes histoquímicos empregados.

b) uma região denominada periplasma cortical, cujo citoplasma apresenta-se indiferenciado, sem gotas ou esferas de vitelo. Esta região, também denominada ectoplasma é muito bem evidenciada por testes histoquímicos;

c) uma região denominada central, cujo citoplasma apresenta-se totalmente preenchido por glóbulos de vitelo de vários tamanhos. Esta região é também denominada deutoplasma. As esferas ou glóbulos de vitelo deram resultados positivos a todos os testes histoquímicos empregados.

A técnica de Feulgen com contra-coloração com Fast Green demonstrou a existência de dois tipos de esferas de vitelo: as que se coram em verde e são denominadas alfa-esferas de vitelo, e as que se coram em vermelho e são denominadas beta-esferas de vitelo. Estas duas espécies de esferas estão presentes em números aproximadamente iguais em ovos maduros.

Estas esferas vão aumentando de tamanho da região anterior para a região posterior do ovo, e geralmente as maiores localizam-se na periferia do ovo.

Através da coloração com HE constatamos a existência de esferas eosinófilas em maior número que basófilas.

O pedicelo é uma estrutura tubular formada por uma única camada de células.

OVÁRIO NO ESTÁGIO V (fig. 3)

Ao microscópio estereoscópico este ovário apresenta-se numa forma irregular, degenerado, com corpos lúteos em algumas áreas.

Na realidade encontramos aqui três tipos de ovários:

Ovários que não iniciaram o desenvolvimento e se caracterizaram por apresentarem um aspecto longo e fino, semelhante ao estágio 0, sendo impossível a distinção entre os quatro ovariolos pois o aspecto é de uma massa citoplasmática eosinófila com núcleos basófilos achatados, irregularmente distribuídos pela massa. Células diferenciadas como no estágio 0 e aqui não são visíveis (fig. 3A).

Ovários que formaram ovos que foram postos; este tipo de ovário geralmente apresenta-se mais largo que o anterior. Em alguns casos é possível distinguir os ovariolos que sofreram colapso, mas estes geralmente se fundem numa massa única que não permite individualizá-los. Corpos lúteos castanho-amarelados podem ser encontrados no interior da massa ovariana. O aspecto deste ovário é de massa intensamente basófila com núcleos irregularmente distribuídos apresentando uma basofilia mais intensa. Quando corados pela técnica do PAS os ovariolos aparecem como massas disformes rosa claro sem núcleos visíveis. Os corpos lúteos aparecem como pontos escuros. Pela técnica de Feulgen a massa citoplasmática apresenta coloração rosa, e os núcleos rosa púrpura ou roxa. Pelo método da ninhydrina-Schiff o ovário apresenta-se como uma massa rosa claro, e os núcleos apresentam uma cor púrpura. Este tipo de ovário foi notado a partir de 30 dias de idade (fig. 3B).

Ovários que formaram ovos, que não foram postos e foram, portanto, reabsorvidos; este tipo de ovário é bem largo, mostrando um ovariolo, justamente aquele que se desenvolveu sendo reabsorvido. Apresenta-se com uma massa com grânulos de vários tamanhos e no centro, glóbulos ou esferas de vitelo semelhantes ao estágio III (fig. 3C). Um outro aspecto deste estágio seria uma fase mais adiantada, um ovócito no estágio IV sendo reabsorvido. O ovócito sofre um murchamento, portanto apresenta-se dobrado. Internamente aparece uma granulação fina, não se percebendo a existência de glóbulos, parecendo que houve uma total liquefação dos nutrientes citoplasmáticos. As membranas que recobriam o ovo apresentam núcleos de forma irregular (fig. 3D).

Nos três casos, a aparência geral do ovário torna-se irregular com um relaxamento marcante das paredes devido ao desaparecimento da câmara-ocítica.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O exame da histologia, histoquímica e ultra-estrutura (Staurengo da Cunha, 1976) dos ovários de *S. postica* nos diferentes estágios

permitiram a observação da existência de um germário distal e de um vitelário proximal.

O germário é uma porção longa em comprimento nos estágios 0, I e II e vai diminuindo até desaparecer no estágio IV. Esta região contém células denominadas células germinativas primordiais ou oogônias. As células mais posteriores seriam os cistócitos, que darão origem ao complexo oócito-células nutritivas, envolvidas por células pré-foliculares.

O vitelário, no estágio 0, é constituído apenas por uma câmara-nutritiva. Mais adiante, no estágio I, começa a delinear-se o oócito constituindo a câmara-oócito, e ambas as câmaras ficam incluídas numa bainha epitelial.

Células foliculares por divisões formam um folículo, somente ao redor do oócito.

A Câmara-nutritiva e a câmara-oocítica ligam-se por um canal central, o canal alimentar ou apêndice nutritivo.

O núcleo das células nutritivas, o oócito, o núcleo do oócito e as células foliculares passam por profundas modificações ao longo do desenvolvimento.

Células nutritivas — Os núcleos destas células são esféricas até o início da vitelogênese. Subsequentemente, tornam-se irregulares e mais tarde lobados.

O envelope nuclear de *Drosophila melanogaster* (King, 1960) cora-se com Fast-Green, Sudan Black B e contém material PAS positivo. Tais resultados também foram encontrados em *Scaptotrigona postica*.

O nucleoplasma corou-se palidamente com todos os corantes empregados. Durante o estágio IV os núcleos das células nutritivas reduzem-se e são deixados como restos assim que o ovo é eliminado.

O citoplasma das células nutritivas reagiu fracamente aos corantes empregados. Deve conter proteínas, lipídeos e polissacarídeos em concentrações moderadas.

King (1960) relata que o citoplasma dessas células em *Drosophila melanogaster* contém pequena quantidade de proteínas, RNA e mucopolissacarídeos.

O canal alimentar fornece um sistema de transferência do citoplasma das células nutritivas para o oócito, e como resultado o oócito começa a conter uma variedade de componentes citoplasmáticos que foram sintetizados pelas células nutritivas irmãs. Consequentemente, elas ficam drenadas da maior parte de seu citoplasma, e a câmara nutritiva fica reduzida a um agrupamento apical de núcleos picnóticos.

Nota-se, portanto, que o crescimento de vitelário ocorre a princípio por crescimento das células nutritivas e posteriormente por crescimento do oócito, chegando-se ao final com as células nutritivas quase sem influir nas mensurações, tendo transferido todo seu material para a célula reprodutora.

Células foliculares — Estas células envolvem o oócito num folículo. Com o aumento do volume do oócito, as células foliculares aumentam em número por divisões mitóticas e formam uma monocamada. Logo, o número destas células estaciona e com o aumento constante do volume do oócito, e as células que eram primariamente colunares, passam a cúbicas, e por último tornam-se achatadas.

Durante os estágios vitelogênicos de *Drosophila melanogaster* as células foliculares são muito ativas na síntese de vitelo. Elas formam a membrana vitelina, o endocório, o exocório, os apêndices dorsais e o cone micropilar (Cummings & King, 1969). Essas funções sintéticas são acompanhadas por uma sequência de mudanças na morfologia das células foliculares.

Conseguimos através da fotomicrografias eletrônicas observar alguns fenômenos relativos à formação da membrana vitelina e do cório de *Scaptotrigona postica* (Staurengo da Cunha, 1976). A membrana vitelina forma-se pela interdigitação da membrana plasmática das células foliculares com as membranas do oócito. Dentro dos espaços formados por estas dobras aparecem corpos vitelínicos que se fundem para formar a membrana vitelínica.

O cório é também uma membrana acelular, externa à membrana vitelina.

Em *Scaptotrigona postica* ele é fino e transparente e como nos ovos de outros insetos apresenta figuras diversas como pentágonos e hexágonos alongados em direção ao eixo longitudinal do ovo. Na extremidade anterior, essas figuras convergem para uma área chamada placa micropilar externa. Projetando-se internamente aparece nesta região, o cone micropilar por onde passa o canal micropilar (Beig, 1971).

Os nossos dados permitiram verificar que o cório apresenta-se de início como uma camada fina onde ficou impregnado o padrão hexagonal das células foliculares. A figura 2D mostra claramente o núcleo destas células. Mais tarde com a degeneração completa destas células, permanece somente o padrão hexagonal.

O oócito — Quanto aos orgânulos citoplasmáticos o oócito é uma célula normal, embora muitas vezes a presença destes possa ser obscurecida pela quantidade de reservas nutritivas, especialmente em estágios mais avançados do desenvolvimento.

Durante os estágios vitelogênicos, o núcleo do oócito incha pela abundância de cariolina secretada, transformando-se na vesícula germinal delimitada por uma membrana bem nítida (fig. 1C). Este inchamento do núcleo talvez se dê devido à entrada de proteínas não histônicas para derrepressão dos genes que atuam na vitelogênese. Essa fase corresponde à dos cromossomos plumulados dos vertebrados.

Oogênese: Vitelogênese — Como as operárias recém-nascidas de *Scaptotrigona postica* podem apresentar o complexo oócito-células nutritivas, supõe-se que a oogênese deve-se iniciar no período pupal. Oogênese ocorre na pupa, enquanto a formação do vitelo ocorre exclusivamente durante a vida adulta. O vitelo é depositado no ooplasma sob forma de gotas ou glóbulos de proteínas, lípídeos e glicogênio.

Em *Scaptotrigona postica* verificamos através de micrografias eletrônicas, a formação de vesículas na membrana plasmática do oócito que podem conter material pinocitado (Staurengo da Cunha, 1976). Verificamos também através de estudos de microscopia ótica a existência de espaços entre células foliculares no estágio III do desenvolvimento (fig. 2D), bem como espaços entre as células foliculares e o oócito em desenvolvimento (fig. 2A e 2B). Isto sugere que tal como em *Hyalophora cecropia* (Telfer, 1965, in King & Aggarwal,

1965) as proteínas da hemolinfa alcançam a superfície do oócito por difusão, atravessam os espaços existentes entre as células foliculares e se combinam seletivamente com moléculas carregadoras no plasmalema do oócito. As proteínas entram para o ooplasma dentro de vesículas pinocíticas as quais se transformam diretamente em esferas de vitelo. As diferenças encontradas entre a hemolinfa e o ooplasma, na concentração das proteínas específicas, podem resultar do transporte seletivo pela túnica própria e bainha epitelial.

A separação das células foliculares durante certos estágios da oogênese permite que o oócito possa ser banhado pelo fluido extracelular que assim contribui para a formação de proteínas exógenas.

Reabsorção — O estágio V corresponde à ovulação. O ovo pronto rompe o tampão epitelial que fecha o vitelário e passa ao oviduto. O folículo vazio sofre colapso, as células degeneram; segundo alguns autores, sofrem autólise e desaparecem. Nos estágios iniciais deste processo, o folículo em degeneração apresenta um corpo proeminente conhecido como corpo lúteo, mas ele não mostra nenhum desenvolvimento progressivo após a ovulação, como o correspondente em mamíferos. Segundo Wigglesworth (1953), o pigmento amarelo brilhante que aparece nestes corpos não tem relação com a luteína lipocrômica dos vertebrados.

Sob a influência de uma variedade de fatores a vitelogênese pode ser interrompida, e o oócito envolvido pelo folículo pode morrer. Segundo Rockstein (1964), essa "pseudoalatectomia" acontece porque as células foliculares deixam de participar da formação do canal alimentar. As células foliculares se dividem amitoticamente e absorvem o oócito morto. Seus núcleos posteriormente tornam-se picnóticos, as células fragmentam-se e são reabsorvidas através das bainhas ovarianas. Este fenômeno foi descrito por Wigglesworth (1953) em *Rhodnius* (in Rockstein, 1964), e ocorre em muitos Hymenoptera.

Em *Scaptotrigona postica* observamos reabsorção de um oócito no estágio III do desenvolvimento, caracterizado por um oócito com grandes esferas de vitelo, rodeadas por um folículo em degeneração. Reabsorção de um oócito no estágio IV de desenvolvimento também foi observado, mostrando um aspecto liquefeito ao invés de esferas de vitelo.

Conclui-se, portanto, que mesmo das operárias que desenvolvem oócitos, nem todos chegam a desempenhar a função de postura.

Estágios da Oogênese — Engels (1973) baseando-se nas observações de Bier (1954) para os estágios da oogênese de *Musca domestica*, propõe uma classificação destes estágios para *Apis mellifera*, e que corresponde aos estágios estudados por Hopkins & King (1966) para *Bombus terrestris*, por King & Richards (1969) e Meng (1968), respectivamente para as espécies parasitas, *Nasonia vitripennis* e *Pimpla turionella*.

Baseados nos dados de Engels (1973) e de Ullmann (1973), os nossos resultados permitiriam dividir a oogênese de operárias de *Scaptotrigona postica* em estágios, cujos principais eventos são:

Germário — com células germinativas primordiais e células nutritivas misturadas. Células pré-foliculares colocadas perifericamente.

Vitelário — formação de cistos de células através de mitoses diferenciais, com a consequente formação do complexo oócito-células nutritivas. Esta região pode ser dividida em três estágios:

a) pré-vitelogênico — que corresponde aos estágios 0 e I com as seguintes transformações: formação do epitélio folicular a partir de células pré-foliculares, células foliculares colunares, células nutritivas de forma poliédrica com núcleos esféricos e oócito com granulação fina;

b) estágios vitelogênicos, subdivididos em:

— vitelogênese inicial, que corresponde ao estágio II do desenvolvimento do adulto, cujas características são: poliploidização dos núcleos das células nutritivas ao mesmo tempo que eles se tornam elípticos e bem granulares, forte crescimento da câmara-nutritiva, inchamento do núcleo do oócito transformando-se na vesícula germinal, células foliculares passam de colunares a cúbicas e oócito com granulação fina;

— vitelogênese média, que corresponde ao estágio III, com as seguintes transformações: síntese euplásmica de proteínas do vitelo, migração do material PAS positivo das células nutritivas para o oócito via canal alimentar, células nutritivas esféricas com núcleos granulares multidigitados, glicogênio nas células nutritivas e em pequena quantidade no oócito, início da formação da membrana vitelina, células foliculares cúbicas com núcleos esféricos e oócito rico em vitelo na forma de grandes glóbulos;

— vitelogênese tardia, que corresponde ao estágio IV, com as seguintes características: forte crescimento do oócito que ultrapassa em comprimento e largura a câmara-nutritiva, degeneração da câmara-nutritiva através do escorregamento do trofoplasma para o oócito, o núcleo das células nutritivas passa a lobado, incorporação de glicogênio pelo oócito, rompimento da vesícula germinal, formação de grandes esferas de vitelo, término da formação da membrana vitelina às custas das células foliculares, formação do cório, células foliculares achatadas e neste ponto o ovo está pronto para ser eliminado;

c) estágio pós-vitelogênico — que corresponde ao estágio V do desenvolvimento do adulto, com as transformações: massa ovariana de forma irregular cujos elementos são indistinguíveis, formação dos corpos lúteos em ovariolos cujos oócitos foram eliminados e reabsorção do vitelo em ovariolos cujos oócitos não foram eliminados.

AGRADECIMENTO

Agradeço à Dra. Carmina da Cruz Landim, do Instituto de Biociências de Rio Claro, a orientação e leitura do manuscrito.

REFERÊNCIAS

- Akahira, Y., S. F. Sakagami & R. Zucchi, 1970. Die Nähreier von den Arbeiterinnen einer stachellosen Biene, *Trigona (Scaptotrigona) postica*, die von der Königin kurz von der eigenen Eiablage Gefressen werden. *Werden. Zool. Anz.* 185 (1-2): 85-93.
- Bego, L. R., 1974. Estudos sobre regulação social em *Nannotrigona (Scaptotrigona) postica* Latr., com especial referência a aspectos morfofuncionais (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). Tese de Mestrado apresentada à FFCL de Ribeirão Preto, USP, 92 pp.

- Beig, D., 1971. Desenvolvimento embionário de abelhas operárias de *Trigona (Scaptotrigona) postica* Latreille (Hymenoptera, Meliponinae). *Arq. Zool.*, São Paulo, 21 (4): 179-234.
- Beig, D., 1972. The production of males in queenright colonies of *Trigona (Scaptotrigona) postica*. *Journ. Apic. Res.* 11 (1): 33-39.
- Camargo, C. A., 1970. Determinação de castas em *Scaptotrigona postica* Latr. (Hym., Apidae). *Rev. brasil. Biol.* 32 (1): 133-138.
- Cummings, M. R. & R. S. King, 1969. The cytology of the vitelogenic stages of oogenesis in *Drosophila melanogaster* I. General staining characteristics. *J. Morph.* 128: 427-442.
- Darchen, R., 1973. Essai d'interprétation du déterminisme des castes chez les Trigones et les Mélipones. *C. R. Acad. Sci. Paris* 276: 607-609.
- Darchen, R. & B. Delage, 1970. Facteur déterminant des castes chez les Trigones (Hyménoptères, Apides). *Ibidem* 270: 1372-1373.
- Engels, R., 1973. Das Zeitliche und räumliche muster der Dottereinlagerung in die oocyte von *Apis mellifica*. *Z. Zellforsch.* 142: 409-430.
- Engels, E., 1974. Occurrence and significance of vitellogenins in female castes of social Hymenoptera. *Amer. Zool.* 14: 1229-1237.
- Gerber, G. H., 1970. Adaptation of the Millon, Sudan-Black B, and Periodic Acid-Schiff technics for block staining of insect tissues. *Stain Technol.* 45 (5): 225-229.
- King, R. C., 1960. Oogenesis in adult *Drosophila melanogaster*. IX Studies on the cytochemistry and ultrastructure of developing oocytes. *Growth* 24: 265-323.
- King, R. C. & S. K. Aggarwal, 1965. Oogenesis in *Hyalophora cecropia*, *Ibidem* 29: 17-83.
- Lison, L., 1953. Histochemie et cytochimie animales. Gauthier Villars Editeur, Paris, 607 pp.
- Michener, C. D., 1974. The social behavior of the bees — a comparative study. The Belknap Press of Harvard Univ. Press. Cambridge, Massachusetts, 404 pp., Cap. IX.
- Pearse, A. G., 1960. Histochemistry — theoretical and applied. J. & A. Churchill Ltd., London, 998 pp.
- Rockstein, M., 1964. The physiology of insecta. Academic Press Inc., N. Y. & London. Vol. I, 640 pp., cap. II.
- Sakagami, S. F. & Y. Akahira, 1958. Comparison of ovarian size and number of ovarioles between the workers of Japanese and European honeybees. *Kontyû* 26: 103-109.
- Sakagami, S. F., D. Beig, R. Zucchi & Y. Akahira, 1963. Occurrence of ovary developed workers in queenright colonies of stingless bees. *Rev. brasil. Biol.* 23 (2): 115-129.
- Sakagami, S. F. & R. Zucchi, 1963. Ovoposition process in a stingless bee *Trigona (Scaptotrigona) postica* Latr. (Hymenoptera). *Studia Ent.* 6 (1-4): 497-510.

- Sakagami, S. F. & R. Zucchi. 1966. Estudo comparativo do comportamento de várias espécies de abelhas sem ferrão, com especial referência ao processo de aprovisionamento e postura das células. *Ciênc. Cult.* 18 (3): 283-295.
- Sakagami, S. F. & R. Zucchi, 1967. Behavior studies of the stingless bees, with special reference to the ovoposition process. VI. *Trigona (Tetragona) clavipes*. *J. Fac. Sci. Hokkaido Uni.*, (S. 6, Zool.) 16 (2): 292-313.
- Snodgrass, R. E., 1956. Anatomy of the honeybee. Comstock Publish. Ass., Ithaca, N. Y. 334 pp., cap. XV.
- Staurengo da Cunha, M. A., 1976. Aspectos morfológicos do desenvolvimento ovariano de operárias adultas de *Scaptotrigona postica* Latr., 1807. (Hym., Apidae). Tese de Mestrado apresentada ao Instituto de Biociências, USP, 147 pp.
- Terada, Y., 1974. Contribuição ao estudo da regulação social em *Leurotrigona muelleri* e *Frieseomelitta varia* (Hym., Apidae). Tese de mestrado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, 94 pp.
- Ullmann, S. L., 1973. Oogenesis in *Tenebrio molitor*: histological and autoradiographical observations on pupal and adult ovaries. *J. Embryol. exp. Morph.* 30 (1): 179-217.
- Wigglesworth, V. B., 1953. The principles of insect physiology. Nethuen & Co. Ltd., London, 546 pp.

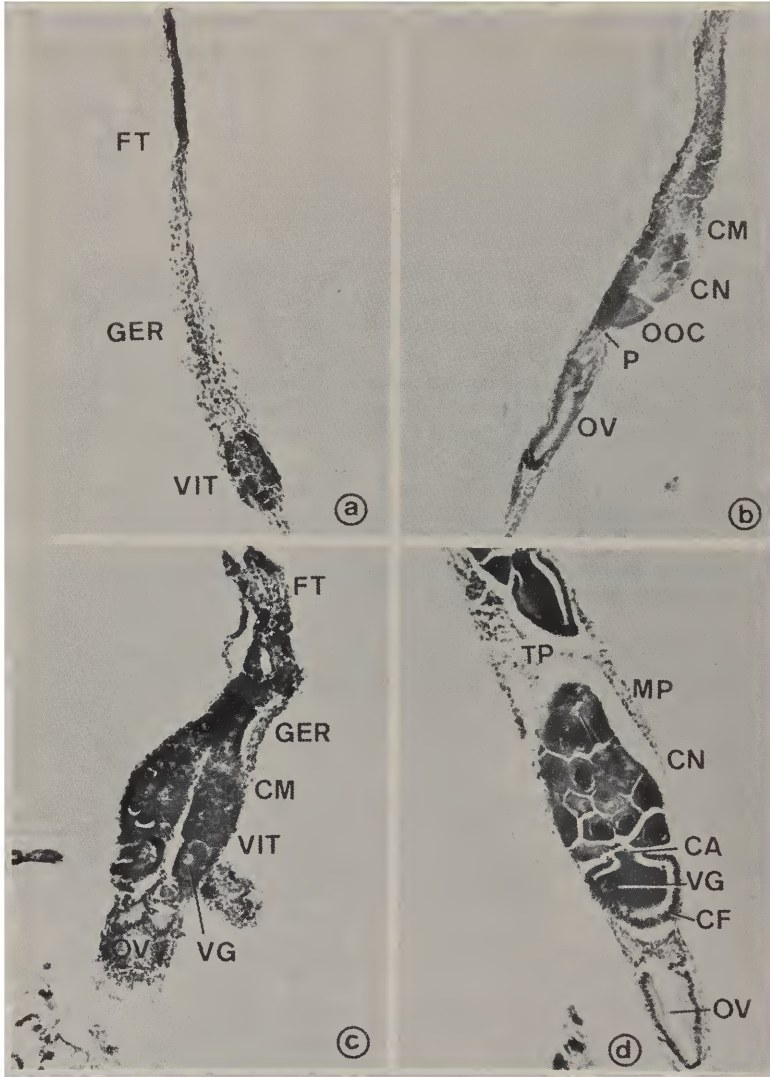


Figura 1. Secções longitudinais de ovários de operárias adultas de *S. postica*: a) Ovário no estágio 0 de desenvolvimento, onde notamos o filamento terminal (FT), o germário (GER) e o vitelário (VIT) com células nutritivas poliédricas; b) ovário no estágio I de desenvolvimento, onde notamos o vitelário dividido em câmara-nutritiva com células nutritivas (CN) e o oócito (OOC). O pedicelo também está presente (P); c) ovário no estágio II de desenvolvimento, onde as células mesodérmicas (CM) são bem visíveis, bem como o oviduto (OV) e a vesícula germinal (VG); d) ovário no estágio III de desenvolvimento, onde notamos as membranas envolvidas, a túnica própria (TP) e a membrana peritoneal (MP), bem como o canal alimentar (CA) separando as duas câmaras (100 x).

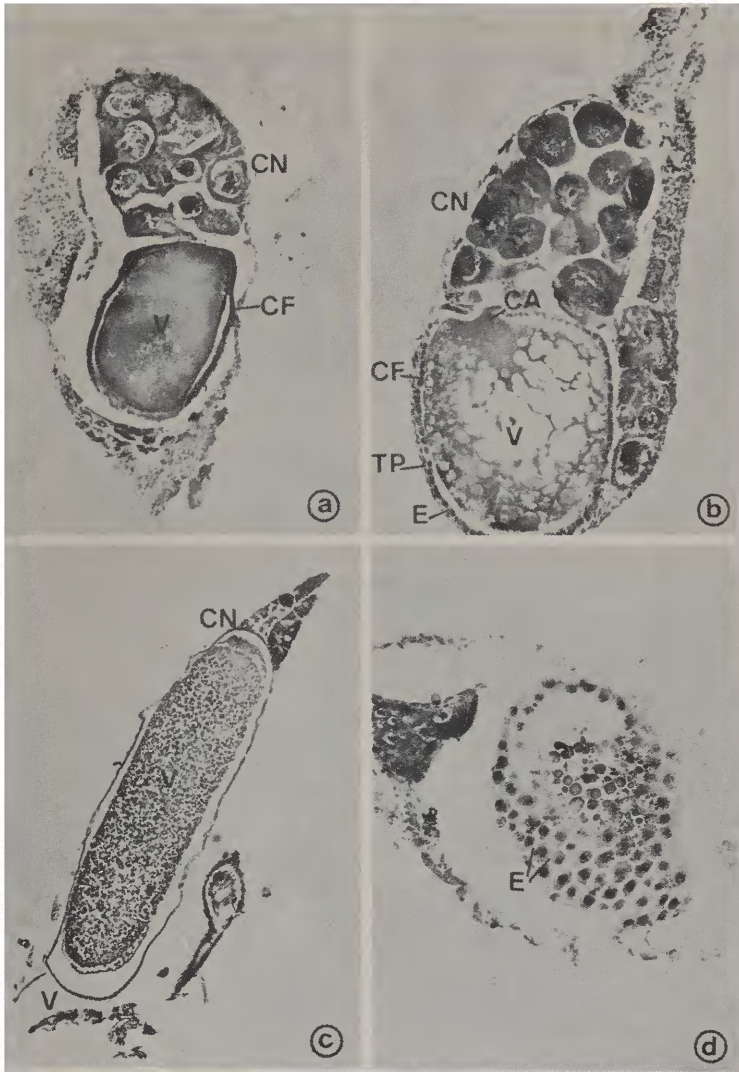


Figura 2. Secções longitudinais de ovários de operárias adultas de *S. postica*: a, b) ovários no estágio III do desenvolvimento; a) a câmara-nutritiva apresenta células nutritivas (CN) com núcleos esféricos, e na câmara-oócito o vitelo (V) apresenta-se na forma de granulação fina; b) a câmara-nutritiva apresenta células nutritivas com núcleos multidigitados e o vitelo (V) do oócito apresenta-se com grandes esferas eosinófilas; c) ovário no estágio IV de desenvolvimento com um oócito do "tipo funcional" com restos de células nutritivas (CN) no ápice; d) detalhe do padrão hexagonal das células folliculares separadas por espaços intercelulares (100 x).

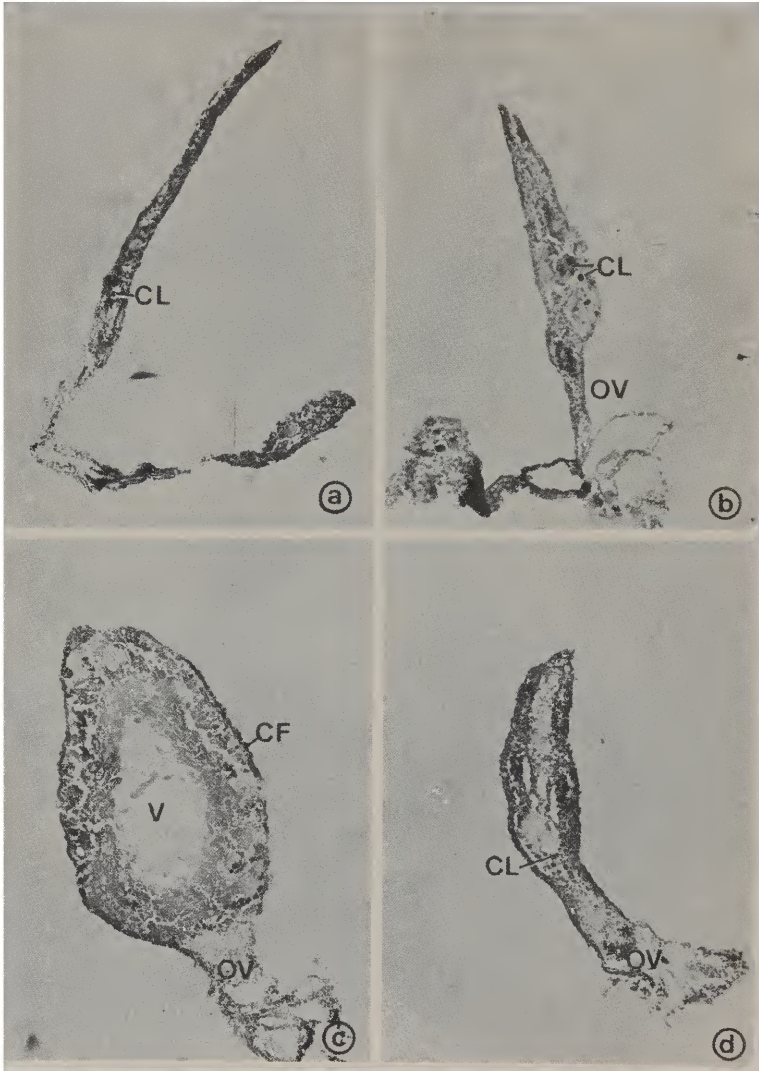


Figura 3. Secções longitudinais de ovários no estágio V de desenvolvimento, de operárias adultas de *S. postica*: a) ovário com aspecto de massa indiferenciada; b, c) ovários com corpos lúteos, e em b) notamos restos de células foliculares (CF) no oviduto (OV); d) ovário no estágio III de desenvolvimento sendo reabsorvido (100 x).